

РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ В ГОРОДЕ МОСКВЕ

*Е.М. Белиловский, Ю.Д. Михайлова, А.О. Темлякова, М.А. Краснова, А.А. Хахалина,
И.В. Перетокина, Г.Е. Фрейман, С.Г. Сафонова
ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом
Департамента здравоохранения города Москвы»*

RESULTS OF A PILOT STUDY OF THE TUBERCULOSIS WITH DRUG-RESISTANT GERM SPREAD IN THE CITY OF MOSCOW

*E.M. Belilovsky, Yu.D. Mikhailova, A.O. Temlyakova, M.A. Krasnova, A.A. Khakhalina,
I.V. Peretokina, G.E. Freiman, S.G. Safonova*

*В статье приводятся результаты пилотного исследования распространения среди жителей г. Москвы штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых к различным противотуберкулезным препаратам (ППП) первого и второго ряда. Работа основана на исследовании штаммов, выделенных от всех 189 впервые выявленных больных туберкулезом, зарегистрированных в 2017 г. в пяти округах города с использованием фенотипических и молекулярно-генетических методов.*

Наибольшая доля устойчивых штаммов зарегистрирована для изониазида (42,3%) и стрептомицина (47,1%). Доля пациентов с МЛУ МБТ была равна 28,6%. Среди больных туберкулезом с МЛУ МБТ 14,8% имели ШЛУ МБТ.

*Отмечена достоверная связь наличия фенотипической и генотипической устойчивости к ряду ППП с принадлежностью к определенным возрастным группам, к факту постоянного проживания в городе, факту отсутствия занятости у пациента и наличия ВИЧ-инфекции. Доля пациентов с наличием мутаций в гене *katG* была достоверно меньше среди пациентов из других субъектов РФ по сравнению с постоянным населением и пациентами из стран ближнего зарубежья.*

Полученная информация может быть использована для обеспечения рационального расходования дорогостоящих ППП, предназначенных для лечения туберкулеза с МЛУ МБТ и для разработки научно обоснованных алгоритмов выбора эмпирических схем лечения больных.

Ключевые слова: туберкулез, эпидемиология, лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза, микробиологические исследования, молекулярно-генетические исследования

The article presents the results of a pilot drug resistance study among the residents of Moscow for first and second line anti-TB drugs. The research was conducted on the basis of a study of strains isolated from all 189 new TB cases registered in 2017 in five districts of the city using phenotypic and molecular genetic methods.

The largest share of resistant strains was recorded for isoniazid (42.3%) and streptomycin (47.1%). The share of TB patients with MDR TB was 28.6%. 14.8% of MDR TB patients had XDR TB.

*A significant relationship between the phenotypic and genotypic resistance to a number of anti-TB drugs and belonging to certain age groups, the fact of permanent residence in the city, the fact of unemployment and the presence of HIV infection was noted. The proportion of patients with mutations in the *katG* gene was significantly lower among patients from other.*

Key words: tuberculosis, epidemiology, drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*, microbiological studies, molecular genetic studies

Введение

Город Москва входит в пятерку субъектов Российской Федерации, имеющих наиболее благополучные эпидемиологические показатели по туберкулезу [1, 2]. В то же время в столице [1, 2], как и по всей стране [3] и в мире в целом [4, 5], остается серьезной проблемой распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) микобактерий (МБТ), которая имеет место почти у 40% больных туберкулезом с бактериовыделением, состоящих на учете в туберкулезных учреждениях города [5, 7].

Согласно международным рекомендациям [6], для получения достоверной оценки степени и путей распространения штаммов МБТ с ЛУ на определенной территории необходимо проводить периодические исследования по стандартному протоколу на специально организованных выборках пациентов. Это позволяет получать результаты, как сравнимые с другими территориями/странами, так и иметь сравнимые во времени данные для одной отдельной территории. Проведение периодических выборочных исследований по оценке распространения ЛУ МБТ среди различных слоев населения является необходимым атрибутом качественно функционирующей системы мониторинга туберкулеза в любой стране мира [7, 8]. В то же время в Российской Федерации таких исследований еще не проводили ни на федеральном, ни на субъектовом (региональном) уровнях.

Заметим, что данные лаборатории о штаммах, исследованных за определенный период и не привязанных к конкретному населению, могут говорить о ее (лаборатории) возможностях в определении ЛУ МБТ к различным препаратам и об обобщенном взгляде на данную проблему в учреждении, где она (эта лаборатория) функционирует. Анализ получаемой информации с эпидемиологических позиций, при условии, что сбор данных был организован с учетом основных требований к обеспечению репрезентативности, позволяет оценить реальную ситуацию на определенной территории и влияние на нее различных факторов. Последнее особенно важно для принятия управляющих решений и организации целевых мероприятий по преодолению проблемы устойчивости к используемым ПТП.

Постоянно действующая рутинная система сбора информации о ЛУ МБТ не может и не должна содержать все необходимые данные для необходимого анализа распространения штаммов МБТ, устойчивых к противотуберкулезным препаратам (ПТП), а также сведений об их генотипе, которые могут дать важную информацию о путях и источниках распространения инфекции в столичном мегаполисе. Это потребовало бы, как минимум, излишнего удорожания системы мониторинга, усложнения логистики исследований и обеспечения соответствующими кадровыми ресурсами как лабораторной службы, так и службы эпидемиологического надзора.

Действующая в городе Москве система мониторинга туберкулеза обеспечивает определенный объем информации, которую можно использовать для общей оценки распространения туберкулеза с ЛУ МБТ среди населения. В связи с этим в г. Москве был разработан протокол и проведено выборочное пилотное исследование распространения туберкулеза с ЛУ МБТ среди впервые выявленных больных туберкулезом, различающихся по статусу пребывания на территории города, которое включало использование молекулярно-генетических методов. Кроме того, предполагалось использовать полученные результаты и разработанную логистику для проведения более широкого исследования с включением в него, помимо впервые выявленных больных, пациентов, взятых на повторные курсы лечения.

Цели исследования

На основе данных пилотного исследования, проводимого среди впервые выявленных больных туберкулезом с использованием фенотипических и молекулярно-генетических методов, оценить распространение среди жителей мегаполиса штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых к противотуберкулезным препаратам первого и второго ряда, и определить наличие и величину связей между различными социально-демографическими факторами и наличием лекарственной устойчивости.

Материалы и методы исследования

Проведен анализ результатов исследований лекарственной чувствительности (ИЛЧ), проведенных на базе Централизованной бактериологической лаборатории (ЦБЛ) ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы» (МНПЦБТ). Рассматривали культуры, выделенные от всех впервые выявленных за 6 месяцев (сплошная выборка с 1 июля по 31 декабря 2017 года) больных туберкулезом с бактериовыделением, постоянных жителей г. Москвы и приезжих, зарегистрированных в полицейском регистре городской системы мониторинга туберкулеза (СМТ) и проживающих в 5 из 9 административных округов города – Северном, Западном, Восточном, Южном и Центральном, находящихся в пределах Московской кольцевой автомобильной дороги (МКАД).

Выбор указанных округов был связан с тем, что, согласно имеющейся в городе логистике лабораторных исследований, культуральные исследования и ИЛЧ для пациентов из указанных округов проводились преимущественно в ЦБЛ. Филиалы Центра в Северо-Западном, Северо-Восточном, Юго-Восточном и Юго-Западном административных округах имеют собственные лаборатории и результаты ИЛЧ пациентов, выявленных в этих округах, не были включены в пилотное исследование.

Часть культур, выделенных от впервые выявленных больных до начала лечения (46%), была получена из лабораторий ГБУЗ «Туберкулезная клиническая больница № 3 им. Г.А. Захарьина ДЗМ» и ГБУЗ «Туберкулезная больница им. А.Е. Рабухина ДЗМ» и транспортирована в ЦБЛ, где было проведено ИЛЧ.

Указанные пять округов географически равномерно расположены на территории города, и в них выявляют 52% всех новых случаев заболевания туберкулезом г. Москвы. Это обеспечивает определенную репрезентативность выборки, и полученные результаты достаточно точно отражают общую ситуацию по распространению МБТ с ЛУ в г. Москве.

В исследование также не были включены данные о пациентах из относительно недавно присоединенного к городу ТиНАО ввиду того, что данный округ значительно отличается от остальных низкой плотностью населения и инфраструктурой.

Данные о выявлении, социально-демографической характеристике пациентов и диагнозе были взяты из регистра СМТ. Для анализа также выделили группу лиц с «ограниченной социальной активностью», в которую включали неработающих лиц трудоспособного возраста, пенсионеров и инвалидов.

Для оценки связи возраста пациентов с ЛУ МБТ выбраны две модели возрастных интервалов: а) разбивка по 10 лет, начиная с 18: 18–27, 28–37, 38–47, 48–57 и более 58 лет и б) разбивка, аналогичная имеющейся в федеральной отчетной документации по туберкулезу: 18–24, 25–34, 35–44, 45–54, 55–64 и более 65 лет. Использование двух моделей разбивки возраста на анализируемые интервалы дало возможность получить ряд уточнений при исследовании ассоциативной связи возраста больных и фактов наличия мутации и устойчивости к различным ПТП.

В качестве «впервые выявленных больных» в рамках исследования рассматривали пациентов: (1) зарегистрированных в 2017 г. как впервые в жизни выявленные больные и (2) у которых диагностический материал был взят не позже одного месяца после регистрации больного в качестве впервые выявленного, т.е. дата регистрации, указанная в извещении № 089у/туб, была либо позже, либо не более чем на один месяц раньше даты взятия материала для лабораторного исследования.

Из первоначально взятых для исследования 215 штаммов от 215 пациентов, четыре оказались загрязненными нетуберкулезными микобактериями (*M. abscessus*, *M. kansasii*), 13 культур не попали в анализ по логистическим причинам, у двух пациентов диагноз туберкулеза не был подтвержден, четверо пациентов после уточнения анамнеза оказались с рецидивами туберкулеза или прибывшими из другого региона, у трех пациентов взятие материала было проведено позже одного месяца после регистрации больного в качестве впервые выявленного.

Таким образом, в исследование вошли 189 штаммов, полученных от 189 больных из 215 – 90,4% впервые выявленных

больных с положительным результатом посева в указанных пяти административных округах Москвы.

Социально-демографической структура включенных в исследование больных туберкулезом с бактериовыделением была следующей:

- постоянные жители Москвы составляли 66,1% (125 чел.), прибывшие из других субъектов Российской Федерации – 18,5% (35 чел.), лица БОМЖ – 2,6% (5 чел.), граждане стран ближнего зарубежья – 11,6% (22 чел.) и граждане стран дальнего зарубежья – 1,1% (2 чел.);
- 68,8% были мужчинами, возрастная медиана выборки равнялась 40 лет с межквартильным размахом 25–75%, равным 32,0–51,0 год;
- половина пациентов не имели постоянной работы (51,9%, или 98 чел.), 31,2% (59 чел.) имели постоянную работу, 10,6% (20 чел.) были пенсионерами, 3,7% (7 чел.) – инвалидами и 2,6% (5 чел.) – учащимися средних и высших учебных заведений;
- коинфекцию ВИЧ/туберкулез выявили у 20,6% больных (39 чел.).

У всех пациентов, взятых в исследование, проведено ИЛЧ МБТ к ПТП первого ряда (ПТП1): изониазиду (H), рифампицину (R), стрептомицину (S), этамбутолу (E), пипразинамиду (Z), и к следующим ПТП второго ряда (ПТП2): канамицину (Km), амикацину (Am), офлоксацину (Ofl), моксифлоксацину (Mox), капреомицину (Cap), левофлоксацину (Lev), циклосерину (Cs), аминосалициловой кислоте (PAS), этионамиду (Et), ципрофлоксацину (Cipro) и линезолиду (Lz).

Определение ЛЧ МБТ к 15 ПТП проводили с помощью автоматизированной системы BACTEC™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson, США) в жидкой питательной среде *Middlebrook 7H9* с использованием значений критических концентраций ПТП, рекомендованных ВОЗ в 2014 г. [8]. Для Cipro применяли критерии ВОЗ 2008 г. [9]. Ввиду отсутствия рекомендованной ВОЗ критической концентрации Cs в системе BACTEC™ MGIT™ 960, чувствительность к данному препарату определяли классическим неавтоматизированным методом абсолютных концентраций на плотной среде Левенштейна-Йенсена согласно общепринятому стандарту.

Устойчивость к ПТП2 определяли для всех штаммов МБТ, вне зависимости от наличия у них устойчивости к H и R.

Молекулярно-генетические исследования проводили с использованием следующих системы «ТБ-ТЕСТ» (ООО «БИОЧИП-ИМБ», Россия), которая позволяет выявлять ДНК *M. tuberculosis* complex и определять 28 вариантов мутаций в гене *rpoB* (устойчивость к R), 11 мутаций в гене *katG*, 5 – в гене *inhA* и 5 – в межгенной области *ahpC/ohyR* (устойчивость к H), 23 мутации в гене *embB* (устойчивость к этамбутолу), 15 типов мутаций в гене *gyrA* и 23 типа мутаций в гене *gyrB*, (устойчивость к фторхинолонам), 4 мутации в гене *rrs* и 5 мутаций в гене *eis* (устойчивость к канамицину, амикацину, капреомицину).

Таблица 1. Лекарственная устойчивость МБТ, выделенных от 189 больных, впервые выявленных в пяти округах г. Москвы во втором полугодии 2017 г.

Препарат или спектр ЛУ	Количество штаммов с ЛУ		
	абс.	%	95%-ный доверительный интервал
Изониазид	80	42,3	35,2–49,7
Рифампицин	54	28,6	22,3–35,6
Этамбутол	34	18,0	12,8–24,2
Пиразинамид	38	20,1	14,6–26,5
Стрептомицин	89	47,1	39,8–54,5
Канамицин	28	14,8	10,1–20,7
Амикацин	16	8,5	4,9–13,4
Капреомицин	13	6,9	3,7–11,5
Ципрофлоксацин	13	6,9	3,7–11,5
Офлоксацин	13	6,9	3,7–11,5
Левифлоксацин	10	5,3	2,6–9,5
Моксифлоксацин	6	3,2	1,2–6,8
Циклосерин	1	0,5	0,01–2,9
Ацетилсалициловая кислота	23	12,2	7,9–17,7
Этионамид	42	22,2	16,5–28,8
Линезолид	–	0,0	0,0–1,9
МЛУ	54	28,6	22,3–35,6
Пре-ШЛУ (МЛУ + ЛУ к инъекционным препаратам)	18	9,5	5,7–14,6
Пре-ШЛУ (МЛУ + ЛУ к фторхинолонам)	4	2,1	0,6–5,3
ШЛУ	8	4,2	1,8–8,2

В исследовании решали следующие задачи:

1. Определение фенотипической устойчивости среди впервые выявленных больных к каждому из рассматриваемых ПТП и их сочетанию.
2. Определение связи фенотипической устойчивости к различным ПТП с социально-демографическими характеристиками пациентов.
3. Определение распространения мутаций, являющихся маркерами устойчивости к различным ПТП1 и ПТП2 среди впервые выявленных больных.
4. Определение связи частоты встречаемости различных мутаций с социально-демографическими характеристиками пациентов.

При статистической обработке данных использовали параметрические и непараметрические методы, моновариантный и многофакторный анализ (логистическую регрессию). При этом рассматривали как общепринятый уровень достоверности 95%, так и меньший уровень, равный 90%, в случае недостаточного числа пациентов в некоторых анализируемых и сравниваемых группах пациентов, что допускается в пилотных исследованиях. Статистическую обработку результатов проводили с применением программы EpiInfo™ 7.1.4.0.

Результаты исследования

Спектр фенотипической устойчивости

При анализе фенотипической устойчивости (ФУ) МБТ было определено, что устойчивость к ПТП1 варьировала от 18% для E до 47,1% для S, а к ПТП2 – от 0% (Lz) до 14,8% для Km и 22,2% для Et (табл. 1). Наибольшая устойчивость штаммов *M. tuberculosis* наблюдалась к S (47,1%; 95%ДИ 39,8–54,5%) и к H (42,3%; 95%ДИ 35,2–49,7%). Практически отсутствовали штаммы, устойчивые к Lz (не было вообще) и к циклосерину (один штамм).

Доля культур МБТ с МЛУ и с ШЛУ среди общего количества штаммов составила 28,6% (95%ДИ 22,3–35,6%), а ШЛУ МБТ – 4,2% (95%ДИ 1,8–8,2%). Доля ШЛУ МБТ среди МЛУ МБТ составила 14,8% (95%ДИ 6,6–27,1%).

Отмечено, что устойчивость к ПТП2 в основном выявлена у штаммов с устойчивостью к R и/или к H, что является определенным обоснованием для рутинной практики МНПЦБТ – исследования чувствительности к ПТП2 только у штаммов, устойчивых к этим ключевым ПТП1.

Среди 135 штаммов МБТ, чувствительных к R, было получено всего девять штаммов, устойчивых к ПТП2: 4 штамма (3,0%, 95%ДИ 0,8–7,4%), устойчивых только к Et, и по одному штамму (0,7%, 95%ДИ 0,02–4,1%), устойчивому к:

- Cipro, Ofi и Lev;
- только к PAS;
- PAS и Et;
- Am, Km и Cap;
- только к Km.

Среди 109 штаммов, чувствительных к R и H, выявлено всего три штамма, устойчивых к ПТП2: по одному штамму (0,9%, 95%ДИ 0,01–2,9%), устойчивому к:

- Am, Km и Cap;
- только к Et;
- Cipro, Ofi и Lev.

Оценка связи лекарственной устойчивости с различными социально-демографическими характеристиками пациентов

Полученные сведения о связи ЛУ МБТ с рядом социально-демографических характеристик пациентов даны в таблице 2.

Среди молодых пациентов (18–27 лет) отмечена достоверно меньшая, по сравнению с другими возрастными группами, доля штаммов МБТ с ЛУ к R ($p = 0,0046$), E ($p = 0,0141$), Z ($p = 0,0085$) и Et ($p = 0,0051$). С другой стороны, пациенты в возрасте 28–37 лет имели достоверно большую долю штаммов МБТ, устойчивых к E ($p = 0,0411$) и Et ($p = 0,012$). Доля пациентов с устойчивостью МБТ к S была достоверно больше среди постоянного населения ($p = 0,0394$).

Среди неработающих пациентов трудоспособного возраста наблюдали большую долю больных с МБТ, устойчивыми к R ($p = 0,0999$) и Z ($p = 0,0682$). Кроме того, в группе пациентов

с ограниченной социальной активностью (неработающие лица трудоспособного возраста, пенсионеры, инвалиды) выявлена большая доля больных, выделявших МБТ, устойчивые к R ($p = 0,0721$) и Z ($p = 0,0619$).

Таблица 2. Связь социально-демографических характеристик больных и наличия фенотипической устойчивости МБТ к ПТП а) уровень достоверности (p) связи фенотипической ЛУ МБТ и социально-демографических характеристик больных

Препараты	Характеристики больных						
	Возраст больного (лет)			Постоянное / непостоянное население	Работающие / неработающие	Ограниченная социальная активность	ВИЧ-инфекция
	18-27	28-37	35-44				
Изониазид	-	-	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Рифампицин	0,0046	> 0,1	0,0087	> 0,1	0,0999	0,0721	0,0533
Этамбутол	0,0141	0,0411	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Пиразинамид	0,0085	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0682	0,0619	0,0622
Стрептомицин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0394	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Канамидин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Амикацин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Капреомицин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Ципрофлоксацин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0185
Офлоксацин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0185
Левифлоксацин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0184
Моксифлоксацин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0709
Циклосерин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Ацетилсалициловая кислота	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Этионамид	0,0051	0,0120	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,0610
Линезолид	-	-	-	-	-	-	-
МЛУ	0,0046	> 0,1	0,0087	> 0,1	0,0999	0,0721	0,0533
ШЛУ	> 0,1	0,051	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,058

б) отношение шансов (ОШ и 95%ДИ) наличия ЛУ МБТ у больных различного возраста

Препараты	Возраст больного (лет)		
	18-27	28-37	35-44
Рифампицин	0,0919 (0,012-0,70)	$p > 0,1$	2,37 (1,23-4,55)
Этамбутол	0,00 (0,00-0,54)	2,20 (1,02-4,72)	$p > 0,1$
Пиразинамид	0,00 (0,00 -0,45)	$p > 0,1$	$p > 0,1$
Этионамид	0,00 (0,00-0,41)	2,46 (1,20-5,01)	$p > 0,1$
МЛУ	0,09 (0,01-0,70)	$p > 0,1$	2,3703 (1,23-4,55)
ШЛУ	0,00 (0,00-3,15)	4,25 (0,98-18,43)	$p > 0,1$

в) отношение шансов (ОШ, 95%ДИ и 90%ДИ) наличия ЛУ МБТ у больных различных социальных групп

Препараты	Категория населения: постоянное/непостоянное население	Работающие/неработающие	Ограниченная соц. активность
	ОШ (95%ДИ)	ОШ (90%ДИ)	
Рифампицин	$p > 0,1$	$p > 0,1$	
Пиразинамид	$p > 0,1$	0,45 (0,22-0,94)	
Стрептомицин	0,52 (0,27 -0,97)	$p > 0,1$	
МЛУ	$p > 0,1$	$p > 0,1$	

г) отношение шансов (ОШ, 95%ДИ и 90%ДИ) наличия ЛУ МБТ при коинфекции ВИЧ/туберкулез

Препараты	Уровень достоверности	Отношение шансов	Доверительный интервал
Левифлоксацин	95%	4,27	1,17-15,57
Офлоксацин		3,71	1,17-11,78
Ципрофлоксацин		3,71	1,17-11,78
Рифампицин	90%	2,05	1,11-3,80
Пиразинамид		2,12	1,08-4,15
Моксифлоксацин		4,08	1,03-16,19
Этионамид		2,09	1,09-4,01
МЛУ		2,05	1,11-3,80
ШЛУ		4,17	1,25-13,90

Таблица 3. Связь наличия МЛУ МБТ с различными характеристиками пациентов

Характеристика пациентов	МЛУ МБТ (n = 54)		Не МЛУ МБТ (n = 135)		Отношение шансов (95%ДИ) / (90%ДИ)	
	абс.	%	абс.	%	Моновариабельный анализ	Многофакторный анализ
Возраст 35–44 года	26	48,2	38	28,2	2,4 (1,2-4,6)	2,1 (1,08-4,21)
Коинфекция ВИЧ/ТБ	16	29,6	23	17,0	2,1 (0,98-4,3) / (1,11 -3,8)	1,4 (0,67-3,2)
Ограниченная социальная активность	41	75,9	84	62,2	1,9 (0,9-3,9) / (1,05-3,49)	1,7 (0,8-3,6)

Таблица 4. Связь наличия ШЛУ МБТ с различными характеристиками пациентов

Характеристика пациентов	ШЛУ МБТ (n = 8)		Не ШЛУ МБТ (n = 181)		Отношение шансов (90%ДИ)	
	абс.	%	абс.	%	Моновариабельный анализ	Многофакторный анализ
Возраст 28–37 лет	5	62,5	51	28,2	4,3 (1,2-14,6)	3,7 (1,05-12,8)
Коинфекция ВИЧ/ТБ	4	50,0	35	19,3	4,2 (1,3-13,9)	3,5 (1,03-12,0)

У больных коинфекцией ВИЧ/туберкулез отмечена большая доля штаммов МБТ, устойчивых к OfI и Cipro ($p = 0,0185$), а также к Lev ($p = 0,0184$). Кроме того, для больных туберкулезом, сочетанным с ВИЧ-инфекцией, было характерно наличие МБТ, устойчивых к R ($p = 0,0533$), Z ($p = 0,0622$), Mox ($p = 0,0709$) и Et ($p = 0,061$).

Данные многофакторного анализа демонстрируют, что шанс наличия МЛУ МБТ в возрастной группе 35–44 года в 2,1 раза выше (95%ДИ 1,08–4,21%), чем в других возрастных группах (табл. 3). Среди больных туберкулезом с МЛУ МБТ этот возраст имеют 48,2% пациентов, в то время как среди остальных больных – только 28,2%.

При многофакторном анализе не подтвердилась связь наличия сочетанной ВИЧ-инфекции и статуса ограниченной социальной активности пациента с МЛУ МБТ, что было выявлено при моновариабельном анализе. Связь этих факторов с наличием МЛУ МБТ обусловлена фактором возраста.

Результаты многофакторного анализа показали, что наличие МБТ с ШЛУ с 90%-ной достоверностью связано с возрастом 28–37 лет (ОШ = 3,7; 90%ДИ 1,05–12,8), а также с наличием ВИЧ-инфекции (ОШ = 3,5; 90%ДИ 1,03–12,0). При сравнении с помощью точного критерия Фишера были получены следующие данные: доля ШЛУ МБТ была больше в возрастной группе 28–37 лет ($p = 0,051$), а также среди больных коинфекцией ВИЧ/туберкулез ($p = 0,058$). Для получения большего уровня достоверности полученных результатов необходимо в дальнейшем повторения исследования с большим размером выборки.

Распространение мутаций, ответственных за фенотипическую лекарственную устойчивость МБТ

В анализируемой выборке во всех случаях выявления мутаций, ответственных за фенотипическую устойчивость (ФЛУ) МБТ к тому или иному ПТП, эта ФУ имела место в действительности. Результаты исследований мутаций, ответственных за ФУ МБТ к исследуемым ПТП, представлены в таблице 5.

Среди мутаций в гене *groV*, ответственных за ФЛУ к R, наиболее часто встречалась мутация Ser531Leu, обнаруженная у 88,9% (48 из 54 штаммов, 95%ДИ 77,4–95,8%) штаммов МБТ, устойчивых к R. У 3 штаммов (5,6%, 95%ДИ 1,2%–15,4%) выяв-

лены мутации в 526-ом кодоне (His526Arg, His526Tyr), у 2 штаммов – в 516-ом кодоне (3,7%, 95%ДИ 0,5–12,7%). В одном случае была выявлена двойная мутация Ser531Leu, Ser531Trp (1,9%, 95%ДИ 0,0–9,9%).

Наиболее разнообразным был спектр мутаций, ответственных за устойчивость к H. Из 80 культур, фенотипически устойчивых к H, 65 штаммов или 81,3% (95%ДИ 71,0–89,1%) имели мутацию только в 315-ом кодоне гена *katG*, 3 штамма (3,8%, 95%ДИ 0,78–10,57%) – в 15-ом кодоне гена *ihnA*. У 9 штаммов выявили сочетания мутаций: два штамма (2,50%; 95%ДИ 0,30–8,74%) имели мутации G8 и S315T и семь штаммов (8,75%; 95%ДИ 3,59–17,20%) имели мутации T15 и S315T.

Анализ мутаций в гене *gyrA* показал, что выявленные мутации Ala90Val (у 5 штаммов – 38,5%, 95%ДИ 13,9–68,4%) и Asp94Ala (у 3 – 23,1%, 95%ДИ 5,0–53,8%) ассоциированы с ФЛУ к офлоксацину. У одного штамма МБТ (16,7%; 95%ДИ 0,4%–64,1%) мутация Ala90Val привела к ФЛУ также и к моксифлоксацину. Нами установлено наличие перекрестной ФЛУ к OfI и Mox, ассоциированной с мутацией Ala90Val для одного штамма (20%), в то время как штаммы с мутацией Asp94Ala были фенотипически чувствительными к Mox в 100% случаев. Это указывает на возможное преодоление генотипической ЛУ к фторхинолонам (для некоторых мутаций) препаратами нового поколения, такими как Mox. Полученные данные могут иметь клиническое значение и определяют необходимость дальнейших расширенных исследований для подтверждения данного наблюдения.

Мутации, ассоциированные с ФЛУ к Km, Am и Cap, определяли либо в гене *rrs*, либо в гене *eis*. Не было выявлено ни одного штамма МБТ с наличием мутаций в обоих генах одновременно. Анализ мутаций в гене *rrs* показал, что все случаи перекрестной ФЛУ одновременно к трем препаратам были ассоциированы с мутацией a1401g – 13 штаммов, устойчивых к Km (46,4%, 95%ДИ 27,5–66,1%), Am (81,3%, 95%ДИ 54,4–96,0%) и Cap (100,0%, 95%ДИ 75,3–100,0%). По нашим данным, мутации c14t, c12t, g10a и g37t в гене *eis* в 100% (14 штаммов) были ассоциированы с ФЛУ к Km, одновременно с этим мутации c14t и g47t вызывали перекрестную ФЛУ к Am, которая

Таблица 5. Наличие мутаций, ответственных за ФЛУ МБТ к исследуемым ПТП (абс. число и % от всего числа)

Препарат и количество штаммов МБТ с ФЛУ к нему		Мутации				
Рифампицин (n = 54)		Мутации гена <i>rpoB</i>				
		Ser531Leu	Asp516Val	His526Arg	Ser531Leu, Ser531Trp	His526Tyr
	абс.	48	2	2	1	1
	%	88,9	3,7	3,7	1,9	1,9
	95%ДИ	77,4-95,8	0,5-12,7	0,5-12,7	0,0-9,9	0,0-9,9
Изониазид (n = 80)		Мутация гена <i>katG</i>	Мутации гена <i>inhA</i>		Мутации гена <i>ahpC</i>	
		Ser315Thr	T15	G8	A10	T12
	абс.	74	10	2	1	1
	%	92,5	12,5	2,5	1,3	1,3
	95%ДИ	84,4-97,2	6,2-21,8	0,3-8,7	0,0-6,8	0,0-6,8
Фторхинолоны		Мутации гена <i>gyrA</i>				
		Ala90Val	Asp94Ala	Asp94Asn	Asp94Gly	
Ofi (n = 13)	абс.	5	3	2	3	
	%	38,5	23,1	15,4	23,1	
	95%ДИ	13,9-68,4	5,0-53,8	1,9-45,4	5,0-53,8	
Мох (n = 6)	абс.	1	0	2	3	
	%	16,7	0,0	33,3	50,0	
	95%ДИ	0,4-64,1	0,0-45,9	4,3-77,7	11,8-88,2	
Инъекционные препараты		Мутация гена <i>rrs</i>	Мутации гена <i>eis</i>			
		a1401g	c14t	c12t	g10a	g37t
Km (n = 28)	абс.	13	2	2	4	6
	%	46,4	7,1	7,1	14,3	21,4
	95%ДИ	27,5-66,1	0,9-23,5	0,9-23,5	4,0-32,7	8,3-41,0
Am (n = 16)	абс.	13	2	0	0	1
	%	81,3	12,5	0,0	0,0	6,3
	95%ДИ	54,4-96,0	1,6-38,3	0,0-20,6	0,0-20,6	0,2-30,2
Cap (n = 13)	абс.	13	0	0	0	0
	%	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	95%ДИ	75,3-100,0	0,0-20,6	0,0-20,6	0,0-20,6	0,0-20,6

составила 21% от всех штаммов с выявленными мутациями в гене *eis*. Определение мутаций в гене *eis* позволило повысить корреляцию результатов молекулярно-генетических методов с фенотипическим определением ЛУ.

Наибольшая доля МБТ с мутацией в гене *rpoB* выявлена у больных в возрасте 35–44 года ($p = 0,0099$): 47,4% (27 чел., 95%ДИ 34,0–61,0%), в то время как в возрастной группе 18–27 лет эта мутация встречается достоверно реже ($p = 0,00167$), чем в остальных возрастах – 1,8% (один штамм, 95%ДИ 0,04–9,4%).

Факт ограниченной социальной активности связан с наличием мутаций в гене *rpoB* ($p = 0,0758$). Таких пациентов было 75,4% (43 чел. 95%ДИ 62,2–85,9%) среди имеющих мутацию в гене *rpoB*, в то время как в группе без такой мутации – 62,1% (82 чел., 95%ДИ 53,3–70,4%).

Доля пациентов с наличием мутаций в гене *katG*, равная 26,4% (19 чел., 95%ДИ 16,7–38,1%), была достоверно меньше среди пациентов из других субъектов Российской Федерации ($p = 0,0412$), чем среди больных из постоянного населения города и пациентов из стран ближнего зарубежья (суммарно) – 73,6% (53 чел., 95%ДИ 61,9–83,3%).

Обсуждение

В рамках проведенного исследования получена и обработана информация о результатах исследования лекарственной чувствительности МБТ, выделенных от 189 впервые выявленных больных туберкулезом, зарегистрированных в 5 из 9 округов города Москвы. Согласно данным городской системы мониторинга туберкулеза, в этих округах во втором полугодии 2017 г. было выявлено более половины (52,0%) пациентов с бактериовыделением, зарегистрированных в городе в пределах МКАД (213 из 410 впервые выявленных больных туберкулезом с бактериовыделением, определяемым любым методом). Таким образом, получены сведения о спектре ЛУ МБТ от более чем 90% впервые выявленных больных из округов, равномерно расположенных в пределах МКАД на территории города. Таким образом, полученные результаты достаточно полно отражают спектр лекарственной устойчивости МБТ, распространенной на территории города.

Отмечено, что наибольшая доля устойчивых штаммов зарегистрирована для H (42,3%) и S (47,1%). Устойчивость к R отмечена почти у трети впервые выявленных больных – 28,6%, что полностью определили аналогичный уровень МЛУ МБТ –

Таблица 6. Факторы, имеющие связь с наличием ВИЧ-инфекции у больных туберкулезом

Характеристики пациентов	ВИЧ+ (n = 39)		ВИЧ- (n = 150)		Отношение шансов (95%ДИ)	
	абс.	%	абс.	%	Моновариабельный анализ	Многофакторный анализ
Мужской пол	32	82,1	98	65,3	2,43 (1,002-5,88)	2,69 (1,05-6,89)
Возраст 35–44 года	23	59,0	41	27,3	3,82 (1,84-7,95)	4,11 (1,91-8,84)
Ограниченная социальная активность	33	84,6	92	61,3	3,47 (1,37-8,79)	3,41 (1,29-8,96)

28,6%, т.е. все штаммы, устойчивые к R, имели устойчивость к K. Среди больных туберкулезом с МЛУ МБТ 14,8% имели ШЛУ МБТ. Почти у каждого пятого пациента наблюдалась устойчивость к Z (20,1%), E (18,0%) и Et (22,2%).

Доля больных туберкулезом с МБТ, устойчивыми к R, а значит, и МЛУ МБТ, была достоверно выше среди пациентов среднего возраста – 35–44 года, чем у лиц 18–27 лет. Аналогично чаще наблюдали устойчивость к E, Z и Et у лиц 28–37 лет, чем у 18–27 лет. Это косвенно может говорить о перспективе улучшения эпидемиологической обстановки по туберкулезу с МБТ, устойчивых к ПТП первого ряда. Это может косвенно говорить о перспективе улучшения эпидемиологической обстановки по туберкулезу с МБТ, устойчивыми к ПТП1, поскольку у молодого поколения реинфекция играет большую роль, чем реактивация, и, следовательно, данный результат означает, что распространение среди населения штаммов, устойчивых к указанным ПТП, в настоящее время не столько высоко, как раньше.

В определенном плане сведения о достоверно более высокой доле больных туберкулезом с МЛУ МБТ среди неработающих и социально ограниченных лиц очерчивают группу повышенного риска возникновения устойчивости к R.

Особо необходимо рассмотреть достоверную связь наличия у пациента ВИЧ-инфекции с выделением МБТ, устойчивых к R (МЛУ МБТ), Z, фторхинолонам и Et. В исследовании выявлена достоверная связь наличия ВИЧ-инфекции с принадлежностью пациента к возрастному интервалу 35–44 года и фактом ограниченной социальной активности (табл. 6). Поэтому наличие ВИЧ-инфекции может являться маркером концентрации других важных факторов, имеющих более непосредственную связь с ЛУ МБТ. Многофакторный анализ показал, что имен-

но возраст, а не ВИЧ-инфекция имеет достоверную связь с наличием МЛУ МБТ, а ВИЧ-инфекция является сцепленным с возрастом признаком. Значимость полученных результатов при изучении мутаций, ассоциированных с устойчивостью к тем или иным ПТП, была ограничена недостаточным размером выборки пилотного исследования. В целом они повторили показанные выше результаты, полученные по данным оценки фенотипической устойчивости.

Тем не менее представляет интерес, что доля пациентов с наличием мутаций в гене *katG*, равная 26,4%, была достоверно меньше среди пациентов из других субъектов Российской Федерации, чем среди больных из постоянного населения города и из стран ближнего зарубежья. Это может быть следствием достаточно тесной связи московской популяции со странами ближнего зарубежья и/или обусловлено тем, что значимая доля пациентов из постоянного населения являются в прошлом выходцами из указанных стран.

Заключение

Информация, получаемая в ходе исследований, подобных представленному, может быть использована для разработки научно обоснованных алгоритмов выбора эмпирических схем лечения больных (например, не выделяющих МБТ), для выявления и оценки эпидемической опасности очагов туберкулезной инфекции и путей ее распространения, для обеспечения рационального планирования и расходования противотуберкулезных препаратов. Особой задачей для мегаполиса, в условиях высокой миграционной нагрузки, является определение путей попадания в город «завозной» туберкулезной инфекции и выявление потенциальных источников заражения туберкулезом.

Литература

1. Противотуберкулезная работа в г. Москве. Аналитический обзор статистических показателей по туберкулезу. 2017 г. / Под ред. Е.М. Богородской, В.И. Литвинова, Е.М. Белиловского. – М.: МНПЦБТ, 2018. – 288 с.
2. Противотуберкулезная работа в г. Москве. Аналитический обзор статистических показателей по туберкулезу. 2012 г. / Под редакцией Е.М. Богородской, В.И. Литвинова. – М.: МНПЦБТ, 2013. – 164 с.
3. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. 3-е изд. – М., 2015. – 68 с.
4. Bloom B., Atun R., Cohen T. et al. Tuberculosis // In: Holmes K.K., Bertozzi S., Bloom B.R., Jha P., editors. Major Infectious Diseases. 3rd ed. Chapter 11. – Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2017.
5. Dheda K., Gumbo T., Maartens G. et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis // *Lancet Respir. Med.* – 2017. – pii: S2213-2600(17)30079-6. doi: 10.1016/S2213-2600(17)30079-6.
6. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. 5th ed. /WHO/HTM/TB/2015.13 – Geneva: WHO, 2015. [Электронный ресурс] URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/195012/9789242549133_fre.pdf?sequence=1. (Дата обращения 12.07.2019).

7. Günther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges // Clin. Med. (Lond). – 2014. – Vol. 14. – N. 3. – P. 279-285. doi: 10.7861/clinmedicine.14-3-279.
8. World Health Organization. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis / WHO/HTM/TB/2014.11. – Chapter 3. Laboratory. – Geneva: WHO, 2014. – P. 39-60.
[Электронный ресурс] URL: https://www.who.int/tb/publications/pmdt_companionhandbook/en/ (Дата обращения 12.07.2019).
9. World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs / WHO/HTM/TB/2008.392. – Geneva: WHO, 2008. – 20 p. [Электронный ресурс] URL: https://www.who.int/tb/publications/whohtmtb_2008_392/en/ (Дата обращения 12.07.2019).

Сведения об авторах

Белиловский Евгений Михайлович – заведующий отделом эпидемиологического мониторинга туберкулеза ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук.

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Барболина, д. 3, корп. 3
Тел. +7 (915) 190-90-10
e-mail: belilo5@mail.ru

Михайлова Юлия Дмитриевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, Москва, ул. Стромынка, д.10
Тел. 8 (499) 268-70-33, факс 8 (499) 785-20-82
e-mail: juliaisaeva81@rambler.ru

Чижова Александра Олеговна – научный сотрудник отдела эпидемиологического мониторинга туберкулеза ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Барболина, д. 3
Тел. +7 (926) 627-80-16
e-mail: alechizhova@gmail.com

Краснова Мария Александровна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук.

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д.10
Тел. 8 (495) 603-30-33
e-mail: dna77@mail.ru

Сафонова Светлана Григорьевна – заведующая отделом проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10
Тел. 8 (499) 268-08-76, тел./факс 8 (499) 785-20-82
e-mail: safonova.s.g@inbox.ru

Фрейман Георгий Ефимович – заведующий централизованной микробиологической лабораторией ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10
Тел. 8 (499) 268-70-33
e-mail: g.freiman@mail.ru

Хахалина Анастасия Александровна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10
Тел. 8 (495) 603-30-33
e-mail: nastec@bk.ru

Перетокина Ирина Витальевна – врач-бактериолог Централизованной бактериологической лаборатории, научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 107014, Москва, ул. Стромынка, д. 10
Тел. 8 (499) 268-70-33, тел./факс 8 (499) 785-20-82
e-mail: iraperetokina@yandex.ru